Capsules
INRSciences
Centre - Eau Terre Environnement
INRS
Université d'avant-garde

Capsule no 8, avril 2010

Un nouveau procédé biologique pour la séparation solide/liquide des boues d'épuration

Balasubramanian Sellamuthu[1]

Introduction

Les stations de traitement des eaux usées municipales et industrielles traitent annuellement des millions de mètres cubes d'eaux usées de par le monde. Durant ce traitement, des boues sont produites, et ce, en deux étapes, l'une biochimique (en bassin aéré) et l'autre physique (clarificateur secondaire). Dans le bassin aéré, l'élimination du carbone organique, de l'ammonium et des phosphates se fait grâce à divers microorganismes présents dans les boues (virus, bactéries, protozoaires, champignons et algues). Les bactéries sont conservées dans les boues dans un environnement contrôlé, ce qui permet d'enlever efficacement la matière organique et les nutriments des eaux usées et aussi, par la même occasion, d'améliorer la décantation et la déshydratation des boues. Les clarificateurs secondaires facilitent la séparation des matières solides (par simple décantation gravitaire) et le prélèvement des boues décantées.

Les boues d'épuration constituent un réel problème environnemental et économique; leur traitement et leur élimination représentent 50 % des coûts des procédés de traitement des eaux usées. Les boues produites sont généralement réutilisées et/ou recyclées.

Les problèmes rencontrés dans les usines de traitement

La déshydratation des boues dans une usine de traitement des eaux usées peut être compliquée par une mauvaise décantation et la présence de foisonnement. Ce dernier phénomène est causé par des organismes, filamenteux ou non, présents dans les boues (Figure 1 a et b).

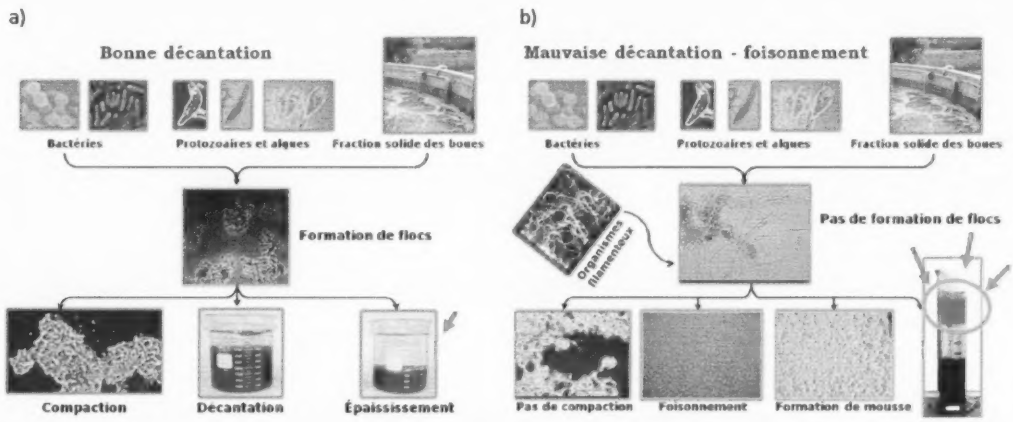

Figure 1 Représentation schématique a) de la décantation des boues et b) du phénomène de foisonnement. En a), les flocs se constituent entre les microbes, les SPE et les fractions solides des boues et aboutissent à la compaction, la décantation et l'épaississement des boues. En b), une croissance incontrôlée des microorganismes filamenteux provoque la formation de mousse. Les filaments empêchent la compaction des boues d'où une mauvaise décantabilité.

[1] INRS – Centre Eau Terre Environnement, 490 de la Couronne, Québec QC G1K 9A9, bala@ete.inrs.ca ou balasnfmc@yahoo.com

Balasubramanian Sellamuthu est associé de recherche dans l'équipe du professeur Rajeshwar Dayal Tyagi au Centre Eau Terre Environnement de l'INRS. Il vient de compléter un doctorat sous la supervision de ce professeur.

En plus des facteurs associés à la croissance microbienne, les procesus de décantation et de déshydratation des boues d'épuration dépendent aussi de leurs propriétés physicochimiques. Le foisonnement des boues est souvent dû à une mauvaise optimisation des paramètres de traitement comme l'excès de nutriments, le taux d'alimentation, le ratio C/N, la température ou encore le taux d'oxygène dissout. Ces paramètres influencent la croissance des bactéries et par conséquent, altèrent les caractéristiques des substances polymériques extracellulaires microbiennes (SPE) formées et la structure des flocs (Sellamuthu *et al.*, 2009).

L'utilisation de polymères chimiques

La décantation et la déshydratation des boues dans les procédés de traitement des eaux usées sont généralement réalisées par l'ajout de polymères chimiques suivi d'une séparation physique des solides de la phase liquide. Les boues sont normalement chargées négativement. On utilise donc des polymères cationiques synthétiques ou des polymères synthétiques anioniques couplés à des cations (Al^{3+}, Fe^{3+}) pour neutraliser la charge à la surface des boues et ainsi faciliter leur floculation et leur décantation. Le principal avantage des polymères chimiques est qu'ils sont actifs sous différentes conditions de pH et induisent rapidement la formation de flocs. Cependant, ils sont polluants et coûtent cher.

Aux États-Unis, on estime la consommation de ces polymères entre 25 et 50 millions kg/an (ce qui correspond à environ 130 millions $/an). En 2002, le Québec a généré 218 000 tonnes de boues (poids sec) et consommé environ 3 à 7 kg de polymères par tonne de boues ce qui revient à un coût entre 7,6 et 10,6 millions $/an. Les polymères synthétiques (PS) sont connus pour leurs effets négatifs sur les microorganismes du sol quand les boues déshydratées contenant ces polymères sont utilisées pour la fertilisation des terres agricoles. De même, l'utilisation de boues déshydratées « chimiquement » comme matière première pour la production de biopesticides entraîne une diminution de l'entomotoxicité et du taux de croissance des microorganismes, par comparaison aux boues décantées sans l'utilisation de polymères chimiques (Vidyarthi *et al.*, 2002).

Par conséquent, l'utilisation de PS pour la déshydratation des boues doit être réduite au maximum afin de minimiser le coût de traitement des boues et atténuer leurs effets toxiques (Tableau 1). L'alternative à l'utilisation des PS est le recours à une approche biologique utilisant les biocoagulants ou biofloculants.

Tableau 1 Résumé des inconvénients de l'utilisation de polymères synthétiques (PS) pour le traitement des boues.

Pollution des écosystèmes	Substances non biodégradables.
Effets néfastes sur la santé	Provoquent des irritations des yeux. Les monomères d'acrylamide (composantes des PS) sont de puissants agents carcinogènes et neurotoxiques. Il a été démontré que l'Al (provenant du chlorure de poly-Aluminium, une composante des PS) peut provoquer la maladie d'Alzheimer.
Odeurs	Sources d'amines odorantes. Constitue une limitation de l'utilisation pour l'enrichissement des sols.
Corrosion	Peuvent attaquer l'acier inoxydable et l'acier doux.

La biofloculation

La biofloculation est un procédé de floculation des boues sous l'action de microorganismes et/ou de leurs produits (SPE, polysaccharides, protéines, lipides, composés intracellulaires et acides nucléiques) dont le but est l'élimination des matières en suspension (MES) avec ou sans biodégradation de celles-ci.

Les enjeux de la recherche

Deux approches ont été développées pour réaliser la biofloculation des boues : (i) en utilisant des SPE (biopolymères); et (ii) en utilisant des souches microbiennes formant des flocs. Nous avons étudié ces deux approches et les avons testées dans les procédés de décantation et de déshydratation des boues.

Les substances polymériques extracellulaires microbiennes (SPE) aident à la formation de bioflocs dans les boues et influencent leurs structures, leurs charges en surface et leur décantabilité. Les bioflocs sont formés par l'interaction entre les agrégats microbiens, les souches bactériennes filamenteuses et les particules organiques et inorganiques maintenues ensemble par les SPE.

Les SPE ont été identifiées comme l'une des principales composantes des bioflocs et des biofilms. Elles sont principalement constituées de polysaccharides, de protéines, d'acides nucléiques et d'autres composantes cellulaires. Les SPE sont soit liées aux cellules (SPE capsulaires), soit sécrétées à l'extérieur des cellules (dépôt gluant). Les SPE extracellulaires (ou dépôt gluant) sont généralement séparées de la matrice cellulaire au cours de la centrifugation, tandis que les SPE capsulaires sont stables et attachées à la paroi cellulaire des microorganismes tout au long du procédé de séparation (Figure 2).

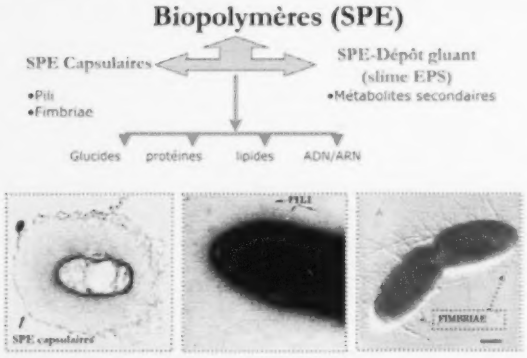

Figure 2 Substances polymériques extracellulaires microbiennes (SPE).

De nombreux travaux ont étudié la biofloculation en utilisant un seul type de SPE (dépôt gluant ou SPE capsulaires) provenant de différents microorganismes. Ils ont rapporté que même lorsque les boues contenaient suffisamment de SPE, ces dernières ne parvenaient pas à décanter spontanément les boues. Jusqu'à présent, les études sur la biofloculation des boues au moyen de polymères bactériens n'ont pas été couronnées de succès pour différentes raisons : (i) il y a un manque de compréhension des interactions entre les SPE et les boues solides; (ii) les différents microorganismes produisant les SPE n'ont pas été isolés et identifiés; (iii) les caractéristiques des SPE microbiens ne sont pas encore connues et; (iv) le rôle actif des différentes composantes des SPE (protéines, lipides, hydrates de carbone, ADN, ARN et autres) dans la formation des bioflocs n'a pas encore été élucidé.

Figure 3 Échantillonnage de boues d'une usine de traitement d'eaux usées pour en prélever les microorganismes.

L'originalité de notre étude

Jusqu'à ce jour, aucune étude scientifique ne s'est intéressée à l'isolement et à l'identification des microorganismes des boues qui produisent des SPE. Les caractéristiques physicochimiques des SPE produites sont aussi mal connues. Dans cette recherche, nous avons extrait plusieurs SPE produites par différentes souches bactériennes isolées des boues. Trois types de SPE (dépôt gluant, capsulaires et une combinaison des deux) obtenus à partir de différentes souches ont été testés pour réaliser la biofloculation. Il s'agit donc de la première étude ayant permis d'isoler et d'identifier différentes souches microbiennes des boues pour les utiliser dans les procédés de biofloculation. Nous avons montré que certaines souches isolées possédaient une meilleure activité de biofloculation par comparaison au consortium microbien (ensemble des microorganismes naturellement présents dans les boues).

Dans la littérature, le rôle des champignons filamenteux dans les procédés de décantation des boues apparaît contradictoire, dans certains cas ils facilitent le processus et dans d'autres ils semblent poser problème. Notre étude a permis de montrer que la souche de champignon filamenteux isolée possédait une bonne activité de bioflocculation des boues. De ce fait, il devient intéressant de l'utiliser dans les procédés de dégradation et de déshydratation des boues.

Notre approche

Pour remédier à ces problèmes, nous avons entrepris d'isoler 25 souches bactériennes productrices de SPE à partir de boues d'épuration municipales. Les microorganismes ont été choisis en se basant sur leur production de SPE dans le milieu de croissance (Sellamuthu *et al.*, 2006a; 2008a; 2010b). Les souches microbiennes productrices de SPE ont été identifiées par séquençage de leur ADNr 16S. Elles ont été cultivées individuellement dans un milieu synthétique et ont produit une quantité importante de SPE (jusqu'à 36 g/L). Toutefois, lorsqu'elles sont cultivées dans un consortium de flores microbiennes (conditions naturelles de croissance dans les boues), elles produisent une quantité plus faible de SPE. Trois types de SPE [dépôt gluant, SPE capsulaires et le bouillon bactérien (combinaison des deux SPE)] ont été récoltés et leurs caractéristiques ont été étudiées. La concentration des biofloculants (poids sec), la viscosité et leur charge à la surface (potentiel zêta variant entre -18 à -80 mv) ont également été mesurées. L'aptitude des SPE à floculer a été évaluée par la mesure de l'activité de floculation du kaolin. Cette activité variait entre 77 et 90 % dans l'ordre : dépôt gluant > SPE capsulaires > SPE dans le bouillon bactérien (Sellamuthu *et al.*, 2006a; 2006b; 2010b).

Malgré leur charge négative, les dépôts gluants présentaient la meilleure activité de bioflocculation. Les dépôts gluants se présentent sous forme de longues chaînes polymériques et comportent de ce fait plus de sites de fixation des particules de boues, des microorganismes et des agents de liaison (cations). Les SPE capsulaires font des agrégats avec d'autres microbes formant ainsi des bioflocs; la taille des flocs est donc moins importante. Les mauvais résultats obtenus avec le bouillon bactérien sont probablement dus à l'obstruction des sites actifs du dépôt gluant par les masses bactériennes. Cette observation explique le fait que les SPE produites naturellement dans les boues ne sont pas très efficaces pour les floculer. En fait, une concentration trop élevée de SPE conduit à une mauvaise floculation. En nous basant sur la mesure de l'activité de floculation du kaolin, nous avons sélectionné six souches bactériennes (BS2, BS8, BS9, BS11, BS15 et BS25). Les dépôts gluants produits par ces six souches ont été étudiés pour leur capacité à décanter et à déshydrater les boues [par la mesure de l'indice de volume des boues et le temps de succion capillaire (CST), respectivement]. Nous avons constaté que la capacité de bioflocculation de ces extraits était similaire à celles des polymères cationiques synthétiques (PS).

La caractérisation chimique des dépôts gluants a également été réalisée. Nous avons constaté que le taux d'hydrates de carbone (TC) dans les SPE était plus élevé que celui des protéines totales (TP) dans tous les cas, sauf pour le consortium bactérien. Après avoir calculé les pourcentages de TC et TP, nous avons constaté que les SPE produites par la culture de souches pures étaient principalement composées de lipides, d'ADN et d'ARN. Les SPE des boues sont, quant à elles, majoritairement constituées de lipides, d'une phase minérale, d'acides organiques, d'acides nucléiques et d'autres composantes non identifiées. Le ratio TC/TP des SPE de souches pures était alors plus élevé que ceux des SPE produites par le consortium bactérien. Dans notre étude, nous avons montré que les souches bactériennes isolées sont capables de produire des SPE qui jouent un rôle majeur dans l'amélioration de la décantabilité des boues. Il est donc primordial d'étudier de près la composition physicochimique de ces SPE ainsi que le rôle respectif de leurs différents constituants (lipides, acides nucléiques, etc.) dans la décantation des boues.

Nous avons également isolé à partir de boues d'épuration une souche de champignon filamenteux (BS30) formant des flocs dans le but de l'utiliser pour réaliser la biofloculation (Figure 4). Nous avons évalué la capacité de cette souche à réduire les solides et les agents pathogènes, à décanter et à déshydrater les boues. Nous avons trouvé que le champignon contribuait à réduire sensiblement la quantité de matières solides et à améliorer la déshydratabilité. L'étude de reproductibilité, menée dans un bioréacteur de 10 L, a confirmé les résultats obtenus, à savoir une réduction des MES d'environ 54 %, une réduction de 2 à 4 unités log d'agents microbiens pathogènes et une meilleure déshydratabilité des boues (CST < 20 s) (Sellamuthu *et al.*, 2008b; 2010a).

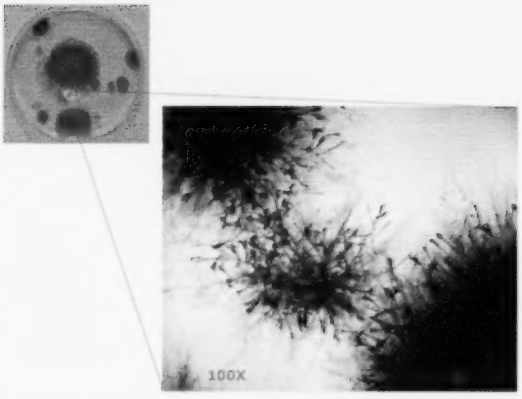

Figure 4 *Penicillium expansum* BS30.

Les résultats de ce projet mèneront bientôt à un nouveau procédé permettant de produire de façon rentable des biofloculants pour la déshydratation des boues d'épuration.

Pour en savoir plus

Références citées dans le texte

- **Sellamuthu, B.**, S. Yan, K.C.K. Lai, R.D. Tyagi and R.Y. Surampalli, 2006a. Screening of Extracellular Polymeric Substances (EPS) producing Microorganisms for Sludge Settling. Pages 188-195 *in IWA Specialized Conference - Sustainable Sludge Management: State of the art, challenges and perspectives,* 29-31 mai 2006, Moscou, Russie.
- **Sellamuthu, B.**, S. Yan, R.D. Tyagi and R.Y. Surampalli, 2006b. Isolation of Extra Cellular Biopolymer Producing Microorganisms from Wastewater Sludge for Sludge Settling and Dewatering. Pages 473-489 *in Water Environment Federation (WEFTEC-06), 79th Annual Technical Exhibition and Conference,* 21-25 octobre 2006, Dallas, Texas, États-Unis.
- **Sellamuthu, B.**, S. Yan, R.D. Tyagi, R.Y. Surampalli and B.N. Lohani, 2008a. Isolation and Molecular Identification of Extracellular Polymeric Substances (EPS) Producing Bacterial Strains for Sludge Settling and Dewatering. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 43(13): 1495-1503. DOI : 10.1080/10934520802293602
- **Sellamuthu, B.**, S. Yan, R.D. Tyagi and R.Y. Surampalli, 2008b. A New Pellet Forming Fungal Strain: Its Isolation, Molecular Identification, and Performance for Simultaneous Sludge Solids Reduction, Flocculation, and Dewatering. *Water Environment Research,* 80(9): 840-852. DOI : 10.2175/106143008X304703
- **Sellamuthu, B.**, S. Yan, R.D. Tyagi and R.Y. Surampalli, 2009. Chapter 7: Bioflocculants. Pages 146-167 *in Sustainable Sludge Management: Production of Value Added Products.* American Society of Civil Engineers.
- **Sellamuthu, B.**, S. Yan, R.D. Tyagi and R.Y. Surampalli, 2010a. SSPRSD Using a Filamentous Fungal Strain Penicillium expansum BS30 Isolated from Wastewater Sludge. *Journal of Environmental Engineering*, 136(7): en ligne. DOI : 10.1061/(ASCE)EE.1943-7870.0000217
- **Sellamuthu, B.**, S. Yan, R.D. Tyagi and R.Y. Surampalli, 2010b. Molecular Identification of EPS Producing Bacterial Strains Isolated from Municipal Wastewater Sludge for Extracellular Polymeric Substances (EPS) Producing Bacterial Strains Of Municipal Wastewater Sludge: Isolation, Molecular Identification, EPS Characterization And Performance For Sludge Settling And Dewatering. *Water Research*, 44 (7): 2253-2266. DOI : 10.1016/j.watres.2009.12.046
- Vidyarthi, A.S., R.D. Tyagi, J.R. Valéro and R.Y. Surampalli, 2002. Studies on the Production of *B. thuringiensis* Based Biopesticides Using Wastewater Sludge as Raw Material. *Water Research*, 36(19): 4850-4860. DOI: 10.1016/S0043-1354(02)00213-0